BERICHTE

DER

DEUTSCEHN

CHEMISCHEN GESELLSCHAFT

ZU

BERLIN.

ABDRUCK

AUS

JAHRGANG HEFT.

BERLIN

FERD. DÜMMLERS VERLAGSBUCHHANDLUNG

HARRWITZ UND GOSSMANN

1875.

208. M. Nencki: Ueber das Indol.

(Eingegangen am 24. Mai; verles. in der Sitzung von Hrn. Oppenheim.)

Seitdem es mir gelungsn ist das Indol als ein Spaltungsprodukt des Albumins nachzuweisen und es auch in relativ grösseren Mengen (bis 0.5 pCt.) aus dem Letzteren zu gewinnen, habe ich mit vielem Interesse diese z. Th. schwierigen Untersuchungen fortgesetzt und zunächst meine Aufmerksamkeit dem durch Einwirkung von rauchender Salpetersäure auf wässerige Indollösung entstehenden rothen Farbstoff zugewendet. Da aber die ersten Analysen des aus Wasser oder verdünnter Essigsäure umkrystallisirten Körpers keine übereinstimmenden Zahlen ergaben, was von einer theilweisen Zersetzung herrührte, so musste nach einer anderen Reinigungsmethode gesucht werden. Es gelingt auch leicht diesen rothen Körper ohne jede Zersetzung nach folgendem Verfahren rein zu gewinnen. Das von der Verdauungsflüssigkeit herrührende, filtrirte Destillat wird in Portionen von 200 — 300 CC. mit 5 — 8 CC. rauchender Salpetersäure versetzt. Die Salpetersäure darf jedoch nicht zu viel salpetrige Säure enthalten und

es ist nöthig die käufliche Säure so weit abrauchen zu lassen, dass sie in einer etwa ein Cm. dicken Schicht nur eine schwach röthlich gelbe Färbung behält. Enthält andererseits die Salpetersäure zu wenig salpetrige Säure, so bildet sich stets der schon früher erwähnte, violette, in concentrirter Schwefelsäure mit purpurrother Farbe lösliche Farbstoff. Werden die obigen Bedingungen eingehalten, so färbt sich das Destillat zunächst schön roth, wie arterielles Blut und wird undurchsichtig. Beim ruhigen Stehen scheidet sich dann die rothe Substanz fast vollständig ab. Nach etwa 12 Stunden wird der entstandene Niederschlag abfiltrirt, mit Wasser gewaschen und zunächst auf Fliesspapier, sodann über Schwefelsäure getrocknet. Man löst das so erhaltene Produkt in möglichst wenig heissem, absoluten Alkohol auf, filtrirt heiss und versetzt das Filtrat so lange mit Aether, als noch ein Niederschlag entsteht. Der schön rothe, aus mikroskopischen Nadeln bestehende Niederschlag setzt sich rasch zu Boden, so dass die ätherische Lösung gut abgegossen werden kann. Man bringt ihn auf ein Filter, wäscht sorgfältig mit Aether aus, presst von der Lauge ab und trocknet über Schwefelsäure bis zu constantem Gewichte. Die Analysen der so erhaltenen Substanz, so wie ihr Verhalten gegen Alkalien und Reductionsmittel haben unzweifelhaft ergeben, dass erstens das Molekulargewicht des Indols = $C_{16}H_{14}N_2$ ist, d. h. dass die von ~~Berger~~ aus den Analysen des Indols abgeleitete Formel C_8H_7N verdoppelt werden muss, und zweitens, dass dieser rothe Farbstoff salpetersaures Nitrosoindol ist = $C_{16}H_{13}(NO)N_2NO_3H$.

Das salpetersaure Nitrosoindol löst sich in Alkohol leicht mit dunkelrother Farbe auf, nur sehr wenig in Wasser und Aether, in salpetersäurehaltigem Wasser ist es fast gänzlich unlöslich. Diese Verbindung ist wenig beständig, sie zersetzt sich schon beim Trocknen im Vacuum. Durch längeres Kochen mit Wasser wird sie unter Gasentwickelung fast vollständig zersetzt. Ich habe die hierbei auftretenden Produkte nicht näher untersucht, nur sei es bemerkt, dass daraus kein Indol entsteht. Trocken erhitzt, verpufft es heftig und die Elementaranalysen des Nitrosoindols mussten mit besonderer Vorsicht, durch Verbrennen eines innigen Gemisches der Substanz mit Bleibichromat ausgeführt werden. Verbrennungen mit Kupferoxyd im Platinschiffchen missglückten stets, indem die Substanz unter Entwickelung von nach Nitrophenol riechenden Dämpfen explodirte. Es wurden folgende Zahlen erhalten:

Gefunden. I.		Gefunden. II.		Gefunden. III.		Salpetersaures Nitrosoindol $C_{16}H_{13}(NO)N_2NO_3H$ verlangt	
C	59.58 pCt.	C	57.87 pCt.	C	58.88 pCt.	C	58.89 pCt.
H	4.46 -	H	4.45 -	H	4.79 -	H	4.29 -
N	16.85 -		—	N	17.04 -	N	17.17 -

In verdünnter Kali- oder Natronlauge löst sich dieses Salz leicht auf, aus welcher Lösung durch Salzsäure das sehr unbeständige salzsaure Salz in rothen, amorphen Flocken abgeschieden wurde.

Es ist mir nicht gelungen das freie Nitrosoindol in reinem Zustande zu erhalten. Aus der alkalischen Lösung scheidet sich nach Zusatz von Essigssäure, zunächst in gelben Flocken, die aber sehr rasch schön roth werden, ein Produkt aus, das auf dem Filter ausgewaschen und getrocknet, keine Essigsäure enthält, das aber nicht mehr Nitrosoindol, sondern Nitroindol zu sein scheint. Die Analysen dieses Produktes haben stets für die Formel des Nitrosoindols zu geringen Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt ergeben. So wurde gefunden:

C 69.01 H 4.48 N 14.74 und 14.26 pCt.

Nitrosoindol verlangt: C 73.00 H 4.94 N 15.81 pCt.

Nitroindol: C 68.8 H 4.66 und N 15.05 pCt.

Auch löst sich die Substanz beim Auswaschen immer mehr in Wasser auf und nimmt saure Reaction an. Die von dem ausgefällten Nitrosoindol abfiltrirte Lauge hinterliess auf dem Wasserbade verdunstet einen mit nur wenig Farbstoff verunreinigten Rückstand aus essig- und salpetersaurem Kalium bestehend. Ich habe daraus durch Waschen mit wenig Alkohol Salpeter in reinem Zustande dargestellt, wovon ich mich durch die Krystallform, kühlen, bittren Geschmack, Bildung von rothen Dämpfen mit metallischem Kupfer und Schwefelsäure und anderen für die Salpetersäure charakteristischen Reactionen überzeugte. Von reducirenden Agentien in saurer oder alkalischer Lösung wird die rothe Nitrosoindollösung rasch entfärbt. Die geringen Quantitäten, mit denen ich stets zu arbeiten genöthigt war, haben mich bis jetzt verhindert das Amidoindol zu erhalten, dagegen habe ich durch Reduction mittelst alkoholischen Schwefelammoniums aus dem Nitroso- das Hydroazoindol

$$\begin{array}{l} C_{16}H_{13}N\text{--}NH \\ \qquad\qquad\quad | \\ C_{16}H_{13}N\text{--}NH \end{array}$$ dargestellt.

Die Ausbeute ist hier fast theoretisch und es kann dazu statt des durch Auflösen in Kali und Fällen mit Essigsäure erhaltenen Produktes, ebensogut auch das salpetersaure Salz verwendet werden. Das Verfahren ist folgendes. Reines, salpetersaures Nitrosoindol wird in wenig heissem Alkohol gelöst, die alkoholische Lösung mit wässerigem Ammoniak versetzt, nöthigenfalls filtrirt und Schwefelwasserstoff durchgeleitet. Nach kurzer Zeit entfärbt sich die Flüssigkeit und gleichzeitig scheidet sich das Reductionsprodukt in glänzenden, gelben Nadeln aus. Sobald sich ihre Menge nicht mehr vermehrt, werden sie auf ein Filter gebracht, sorgfältig mit Alkohol ausgewaschen, zwischen Fliesspapier abgepresst und über Schwefelsäure getrocknet. Diese Operation muss möglichst rasch ausgeführt werden, da die Sub-

stanz an der Luft im feuchten Zustande sich bald braun färbt. Völlig farblos konnte ich sie nie erhalten und es scheint, dass die gelblich graue Färbung ihr eigenthümlich ist. Die Analysen der Substanz ergaben folgende Zahlen:

	Gefunden. I.	II.	Nach der Formel $(C_{16}H_{13}N_2)_2N_2H_2$ berechnet.	
C	77.68 pCt.	77.57 pCt.	C	77.42 pCt.
H	5.62 -	5.88 -	H	5.64 -
N	16.81 -	—	N	16.93 -

Das Hydroazoindol ist in Wasser unlöslich, auch von Alkohol wird es in der Kälte nur wenig gelöst. Es löst sich ziemlich leicht in Aether und Choroform, aus welchen Lösungsmitteln es sich jedoch nicht umkrystallisiren lässt. Als in einem Versuche das Hydroazoindol in möglichst wenig Aether gelöst wurde, hinterliess der im Vacuum verdunstete Aether einen dunkeln, harzigen Rückstand, der nicht mehr zum Krystallisiren gebracht werden konnte. Trocken erhitzt, schmilzt das Hydroazoindol bei etwa 140° C. zu einer tiefblauen Masse, die bei höherer Hitze unter Entwickelung von Ammoniak verkohlt. In concentrirter SO_4H_2 löst sich das Hydroazoindol mit gelber Farbe, die beim Erwärmen in's Roth übergeht. Von Säuren und Alkalien, namentlich in alkoholischer Lösung, wird es in einen Farbstoff übergeführt. Zur Darstellung desselben wurde das Hydroazoindol in alkoholischer Kalilösung gelöst und gelinde erwärmt. ~~Die tiefblaue~~ Lösung, mit Salzsäure versetzt, färbte sich purpurroth und nach dem Verdunsten des Alkohols schied sich der Farbstoff, gemengt mit Chlorkaliumkrystallen, als körniger Niederschlag aus. Durch Waschen mit Wasser von Chlorkalium befreit und an der Luft getrocknet ist der Farbstoff ein dunkelbraunes, in heissem Wasser kaum lösliches Pulver, leicht löslich dagegen in Alkohol und Aether mit karminrother Farbe. Auch in verdünnten Mineralsäuren, namentlich aber in Eisessig, ist er mit tiefpurpurrother Farbe löslich. In dem letzteren Lösungsmittel heiss gelöst, scheidet er sich beim langsamen Erkalten in kugeligen Krystallen aus. In wässerigen Alkalien ist er kaum löslich, leicht dagegen mit tiefblauer Farbe in alkoholischem Ammoniak. Trocken erhitzt, verkohlt er mit dem Geruch nach verbranntem Indigo, ohne zu sublimiren. Ich beabsichtige diesen Earbstoff, der höchst wahrscheinlich Azoindol ist, genauer zu untersuchen.

Das Indol ist ein bei der Digestion mit Pankreas aus dem Eiweiss entstehendes Produkt und zwar ist die Ausbeute aus Serum- und Eiereiweiss ziemlich die gleiche.

Leim mit Ochsenpankreas digerirt liefert so wenig Indol, dass diese minimalen Mengen wohl nur vom Eiweiss der Drüse herrühren können. Von Einfluss auf die Ausbeute ist die Zeit und auch die Temperatur. Nach meinen späteren Beobachtungen wird nach

vier- bis fünftägigem Digeriren die grösste Menge Indol erhalten. Durch längeres Stehen wird die Ausbeute nicht erhöht; die günstigste Temperatur schwankt zwischen 40 — 45° C. Im Verlauf der ganzen Verdauung findet stetig Gasentwickelung statt. Ich habe die Gase nicht näher untersucht, da es bereits durch die Untersuchungen Hüfners und Anderer bekannt ist, dass sie hauptsächlich aus CO_2 und H bestehen. Auch ist Luftzutritt für den günstigen Verlauf dieses Processes nöthig.

Die Verdauungsflüssigkeit enthält darnach sehr viel kohlensaures Ammoniak, was man aus der heftigen Gasentwickelung beim Ansäuren der Flüssigkeit mit Essigsäure ersehen kann; auch gerinnt beim Erhitzen nur wenig oder gar kein Eiweiss mehr.

Um mich zu überzeugen, ob in den von der Verdauungsflüssigkeit herrührenden Destillaten ausser dem Indol noch andere Substanzen enthalten seien, habe ich nach Ausfällung des Indols mit rother Salpetersäure das salpetersaure Filtrat mit Kalilauge neutralisirt und auf dem Wasserbade eingedampft. Die erhaltene Salzmasse wurde sodann mit Salzsäure zerlegt, wobei sich ausser Essigsäure eine ölige, auf dem Wasser schwimmende, mit Farbstoff verunreigte Flüssigkeit in geringer Menge abgeschieden hat. Sie wurde nach mehrfachem Waschen mit Wasser aus einem Fractionirkölbchen destillirt und ergab sich schon bei der zweiten Rectification als reine, bei 185° C. siedende Valeriansäure. Andere Fettsäuren, namentlich Buttersäure konnte ich nicht mit Sicherheit nachweisen; auch die Menge der entstehenden Valeriansäure ist sehr gering, sie schwankt aus einem Kilo Eiweiss zwischen 5 — 10 Grm. Noch möchte ich hinzufügen, dass, um aus den Verdauungsdestillaten reines Indol durch Ausziehen mit Aether zu gewinnen, sie zweckmässiger mit Natron neutralisirt werden. Auch kann aus den nach Umkrystallisiren des Indols erhaltenen Laugen durch Zusatz von Natron noch etwas Indol abgeschieden werden. Die Analysen des nach Abdestilliren des Aethers hinterbliebenen öligen und aus Wasser umkrystallisirten Indols ergaben folgende Zahlen:

Gefunden.				Berechnet.	
Nach einmaligem Umkrystallisiren.		Nach zweimaligem Umkrystallisiren.		Nach der Formel $C_{16}H_{14}N_2$.	
C	81.51 pCt.	C	81.81 pCt.	C	82.05 pCt.
H	6.48 -	H	6.30 -	H	5.98 -
N	—	N	11.71 -	N	11.96 -

Indol wird von oxydirenden Agentien (Kaliumbichromat und Schwefelsäure, verdünnter Salpetersäure, chlorsaurem Kali und Salzsäure) leicht angegriffen. Es bilden sich dabei neben harzigen Produkten rothe Farbstoffe, deren genauere Untersuchung nicht im Plane dieser Arbeit lag. Nur die Umwandlung des Indols zu Indigblau war

für mich von besonderem Interesse, da diese Art der Oxydation eine normal im Thierkörper vorkommende ist; da wir aber mehrere Beobachtungen besitzen, dass die Oxydationen im Thierkörper durch den, von den rothen Blutkörperchen gebundenen Sauerstoff und zwar als Ozon erfolgen, so habe ich bei Zimmertemperatur einen langsamen Strom durch stille electrische Entladung ozonisirter Luft durch in Wasser suspendirtes Indol streichen lassen und hatte das Vergnügen zu sehen, dass der Versuch diese Voraussetzung bestätigte, wobei ich dankbar bemerke, dass Hr. Staatsapother Perrenoud mir seinen von Siemens und Halske construirten Ozonisationsapparat zur Verfügung stellte. Das in kleinen Portionen zu etwa 0.1 Grm. in wenig Wasser suspendirte Indol, färbte sich nach drei- bis vierstündigem Durchleiten immer dunkler und an den Wänden des Gefässes setzte sich ein deutlich blauer Niederschlag ab. Nach zehn- bis fünfzehnstündigem Durchleiten der ozonisirten Luft wurde der Niederschlag, hauptsächlich aus verharztem Indol bestehend, von der gelbgefärbten Lauge abfiltrirt und auf dem Filter mit Aether gewaschen. Der in Aether unlösliche, blaue Rückstand war in kaltem Alkohol nicht, in heissem dagegen etwas mit blauer Farbe löslich. In concentrirter Schwefelsäure löste er sich mit gelbgrüner Farbe, die beim Erhitzen in blau überging. Trocken erhitzt, verflüchtete er sich mit purpurnen Dämpfen, kurz hatte alle Eigenschaften des Indigblaus. Die Ausbeute des so aus Indol erhaltenen Indigblaus ist indessen sehr gering, da das Letztere von Ozon zerstört wird und die Operation auf halbem Wege, noch bevor alles Indol verändert worden, unterbrochen werden muss. Es genügte mir auch den Nachweis für die Entstehung des Indigblau's auf diesem Wege zu führen, da diese Beobachtung ein wesentliches Moment für die Beurtheilung des Oxydationsmodus im Thierkörper ist. Jedenfalls müssen im Organismus Bedingungen vorhanden sein, die das aus dem Indol entstandene Indigblau vor weiterer Zerstörung schützen. Bekanntlich wird angenommen, dass das Indigblau mit Zucker gepaart als Indican ausgeschieden wird. Ich hoffe durch Verabreichung grösserer Dosen Indol an Hunde den wahren Sachverhalt festzustellen, zumal ich gesehen habe, dass mein Versuchshund, mit 1 Grm. Indol gefüttert, keine Intoxicationserscheinungen zeigte und dass aus dem darauf gelassenen Harne ich durch Salzsäure und Chlorkalklösung Indigblau in grösseren Quantitäten abgeschieden habe.

Noch bevor der üble Geruch der Verdauungsflüssigkeit deutlich wahrnehmbar ist, zeigt ein Tropfen derselben unter dem Mikroskop organisirte Gebilde, Körnchen und Stäbchen, deren Menge nach Verlauf von 2—3 Tagen ausserordentlich zunimmt. Die Ersten (*Micrococcen*) sind kleine Kügelchen von 0.0016 bis 0.0024^{mm} im Durchmesser, stark lichtbrechend und meistens in lebhafter molekularer Bewegung begriffen. Die Zweiten, Stäbchen (*Bacterien*), haben nach

den verschiedensten Richtungen vorwärts gleitende oder auch rotirende Bewegung. Ihre Länge beträgt im Mittel 0.008^{mm}, die grössten haben die Länge von 0.016, die kleinsten von 0.0045^{mm}. Ihre Breite beträgt höchstens 0.0008^{mm}. Oefters erscheinen die Kügelchen terminal an Stäbchen haftend, so dass das Ganze das Aussehen einer stumpfen Stecknadel hat. Diese niedrigen Organismen fehlen nie bei der künstlichen Pankreasverdauung, sobald die Drüsensubstanz verwendet wird und nicht das künstliche Ferment. Es geht dies aus den interessanten Versuchen Hüfners[1]) hervor und ich bezweifle nicht im Mindesten, dass, wie es auch Tiegel zeigte, schon im lebendigen Körper das Pankreas Sitz dieser Organismen ist. Wenn nun nach den übereinstimmenden Angaben von Kühne und Hüfner das reine Pankreasferment nicht im Stande ist aus dem Eiweiss Indol zu bilden, so unterliegt es trotzdem keinem Zweifel, dass das Indol ein normales Produkt der Darmverdauung ist. Denn abgesehen davon, dass in den Excrementen sich stets Indol nachweisen lässt, ist das konstante Auftreten des Indigblau's im Harne, das ja unzweifelhaft vom Indol abstammt, ein nicht minder sicherer Beweis dafür. Wenn die Bildung des Indols bedingt ist durch den Lebensprocess der Bacterien, so finden hier die Resultate der Pasteur'schen Untersuchungen von Neuem ihre Bestätigung, denn schwerlich dürfte jemandem, der sich mit der mikroskopischen Untersuchung des normalen Darminhalts beschäftigte, die Anwesenheit der *Micrococcen* und *Bacterien* entgehen. Es geht hieraus hervor, dass die normale Darmverdauung zum guten Theil Fäulniss d. h. Zersetzung des Albumins durch niedere Organismen ist. Mit dem Abschluss der vorliegenden Arbeit habe ich Untersuchungen über die Zersetzung der Kohlehydrate durch Pankreas bei Anwesenheit von Bacterien begonnen und es ist sehr wahrscheinlich, dass das Vorkommen von Milchsäure, Buttersäure und andern Produkten im Darme auf Gährung d. h. Zersetzung des Zuckers durch Bacterien beruht.

Für die Beurtheilung der molekularen Struktur des Eiweisses ist es von Wichtigkeit zu erfahren, ob das Indol als solches in seinem Molekül enthalten ist, oder ob es erst secundär aus einem seiner schon bekannten Spaltungsprodukte gebildet werde. Nach dem Tyrosin ist das Indol die zweite, aus dem Eiweiss erhaltene aromatische Substanz und es ist auffallend, dass aus dem Leim, welcher mit verdünnten Säuren und Alkalien, oder auch mit Pankreas digerirt kein Tyrosin, sondern nur Leucin und Glycocoll liefert, Indol nur in Spuren erhalten wurde. Es war die Möglichkeit vorhanden, dass das Indol erst secundär aus dem Tyrosin durch eine eigenthümliche Gährung entstehe, die man durch folgende Gleichung ausdrücken könnte:

$$(C_9H_{11}NO_3)_2 = C_{16}H_{14}N_2 + 2CO_2 + 2H_2O + 2H_2.$$

[1]) Journal f. practische Chemie. B. X, S. 1. Bd. XI, S. 43.

Die Versuche, die ich nach dieser Richtung hin mit Tyrosin und Ochsenpankreas anstellte, haben mir kein entschiedenes Resultat ergeben. Die geringen Quantitäten des erhaltenen Indols hätten auch vom Eiweiss der Drüse herrühren können und es wäre wünschenswerth, dass andere Chemiker, die sich im Besitz grösserer Quantitäten Tyrosin's befinden, diesen Versuch wiederholen möchten. Zum Schluss benutzte ich die Gelegenheit Hrn. J. H. Jäger aus Leipzig meinen aufrichtigen Dank auszusprechen für den ausgezeichneten Eifer und die Geschicklichkeit, womit er mich bei der Ausführung dieser Arbeit unterstützte.

Bern, im Mai 1875.

A. W. Schade's Buchdruckerei (L. Schade) in Berlin, Stallschreiberstrasse 47.